

不同粒径大小的甘露糖修饰聚合物胶束制备及其靶向药物输送应用

汪家伟¹, 张 权^{1,2}, 叶 舟¹, 崔晨宇¹, 尹 健^{*1,2}

(1. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 糖化学与生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: 采用原子转移自由基聚合(ATRP)反应合成不同嵌段比例的嵌段聚合物聚甲基丙烯酸丙酮缩甘油酯-聚甲基丙烯酸缩水甘油酯(PSA-*b*-PGMA), 并通过"click"反应在聚合物上进行 D-甘露糖修饰, 得到了甘露糖修饰的两亲性聚合物聚甲基丙烯酸丙酮缩甘油酯-聚甲基丙烯酸缩水甘油酯-甘露糖(PSA-*b*-PGMA-Mannose)。利用该两亲性聚合物在水中自组装形成胶束, 并通过胶束的疏水空腔包裹抗癌药物阿霉素(DOX)。PSA-*b*-PGMA-Mannose 的分子结构通过核磁共振氢谱和傅立叶变换红外光谱表征确认。所形成胶束的形貌和粒径通过透射电镜和动态光散射进行表征。载药胶束的细胞内吞摄取以及细胞毒性通过激光共聚焦显微镜和 MTT 细胞毒性方法进行评价。实验结果表明: 不同嵌段比的两亲性聚合物所形成的胶束, 随着聚合物中亲水性链段的比例增大, 形成胶束的粒径逐渐减小。同时, 甘露糖受体过度表达的人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 能够特异性识别并大量摄取载药胶束, 从而在癌细胞内释放药物 DOX 发挥药效。

关键词: D-甘露糖; 聚合物胶束; 靶向药物输送; 细胞内吞; 细胞毒性

中图分类号: R 943 文章编号: 1673-1689(2019)02-0050-09 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.02.008

Mannose-Conjugated Polymeric Micelles with Different Sizes for Targeted Drug Delivery

WANG Jiawei¹, ZHANG Quan^{1,2}, YE Zhou¹, CUI Chenyu¹, YIN Jian^{*1,2}

(1. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Key Laboratory of Carbohydrate Chemistry & Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The poly (solketal methacrylate)-block-poly (glycidyl methacrylate) (PSA-*b*-PGMA) copolymer is synthesized by atom transfer radical polymerization (ATRP) and functionalized with mannose by the "click" reaction to yield PSA-*b*-PGMA-Mannose. These copolymers are used to prepare polymeric micelles, and an anticancer drug, doxorubicin (DOX), is encapsulated into the micelles by oil-water method. Structure of PSA-*b*-PGMA-Mannose is confirmed by ¹H NMR and

收稿日期: 2016-04-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(51403081); 江苏省自然科学基金项目(BK20140137)。

* 通信作者: 尹 健(1979—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事糖生物工程研究。E-mail: jianyin@jiangnan.edu.cn

引用本文: 汪家伟, 张权, 叶舟, 等. 不同粒径大小的甘露糖修饰聚合物胶束制备及其靶向药物输送应用 [J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(02): 50-58.

FT-IR. The size and morphologic of PSA-b-PGMA-Mannose with different block ratios were characterized by transmission electron microscopy and dynamic light scattering. The in vitro cytotoxicity and cellular uptake against MDA-MB-231 cancer cells were evaluated by confocal laser scanning microscopy and MTT assay. The results show a decrease in the average size of micelles upon an increase in the hydrophilic/hydrophobic block ratio. The DOX-loaded micelles are efficiently trapped by MDA-MB-231 cancer cells via receptor-mediated endocytosis and release loaded DOX into the cells.

Keywords: D-mannose, polymeric micelles, targeted drug delivery, endocytosis, cytotoxicity

癌症是目前人类面临的重大健康难题,据世界卫生组织(WHO)预计,2030年全世界将会有约1 200万人死于癌症。在近五十年的癌症治疗史上,化疗已然成为最有效的手段之一,在临床研究中涌现出了500多种抗癌药物,但是癌症的死亡率仍然高达20.2%。其中,主要原因在于抗癌药物的毒副作用以及癌细胞的多药耐药性^[1-2]。因此,如何提高药物的疗效并减少毒副作用,以及克服癌细胞的耐药性一直是研究者亟需解决的问题。近年来,科研人员将飞速发展的纳米技术与传统化疗创造性的结合,设计出了新型的靶向给药系统,为癌症的治愈带来了光明的前景。目前,用于新型靶向给药的纳米载体种类繁多,应用较为广泛的主要有聚合物胶束^[3-4]、脂质体^[5]、树枝状大分子^[6]和介孔硅纳米粒子^[7-8]等。

利用聚合物胶束为药物载体输送抗癌药物,以提高药物的靶向性和克服癌细胞的耐药性已经引起了广大科研工作者的关注^[9-10]。聚合物胶束主要通过两亲性分子的自组装而得到,形成亲水外壳和疏水空腔的结构,其疏水空腔为难溶性药物提供了一个良好的载药环境。在体内,聚合物胶束具有良好的稳定性和生物相容性,并能通过增强渗透与滞留(EPR)效应实现肿瘤的被动靶向,提高疏水药物的生物利用度。载药聚合物胶束通过EPR效应到达肿瘤区域的过程中,为了不被体内的免疫系统所识别而被快速清除,延长载药胶束在血液中的长时间循环,其中,胶束尺寸至关重要。一般肿瘤血管的孔洞直径小于400 nm,体内的肾脏会清除10 nm以下及肝脏会清除100 nm以上的纳米颗粒,所以制备聚合物胶束直径的合适尺寸为10~100 nm。另外,针对不同肿瘤,不同尺寸的载药胶束穿透能力差别很大,从而对治疗效果造成很大影响^[11]。因此,制备粒

径可调控的聚合物胶束有助于最大限度地发挥纳米载体的EPR效应,从而提高药物载体对肿瘤组织的被动靶向功能。

在聚合物胶束表面引入对癌细胞具有特异性识别作用的功能配体,如叶酸^[12]、促黄体生成素释放激素^[13]、多肽^[14]、抗体^[15]等,通过配体-受体介导的内吞作用可以有效提高癌细胞对于载药胶束的摄取。近年来,利用某些肿瘤细胞表面存在着高表达的甘露糖受体,在纳米载体表面修饰上甘露糖分子,通过受体与甘露糖分子的特异性识别,以实现抗癌药物的靶向输送,已经得到证明^[16-17]。但是,在两亲性聚合物胶束上引入甘露糖分子,以实现癌细胞的靶向药物输送的研究却鲜有报道。

本文作者通过原子转移自由基聚合(ATRP)以及"click"反应合成了具有不同嵌段比的甘露糖修饰的两亲性聚合物,采用核磁共振氢谱(¹H-NMR)、透射电镜(TEM)、动态光散射(DLS)等表征手段,确认分子结构并考察不同嵌段比聚合物形成胶束的形貌和粒径变化情况。同时,以阿霉素为模型药物,通过细胞实验研究甘露糖修饰的载药胶束对人乳腺癌细胞MDA-MB-231的抑制作用,并考察其对正常细胞HEK293的毒性。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

丙烯酸(分析纯)、2,2-二甲基-1,3-二氧戊烷-4-甲醇(Solketal,99%)、1,1,4,7,7-五甲基-二乙烯基三胺(PMDETA,99%)、甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA,97%)、三氟甲磺酸三甲基硅酯(TMSOTf,99%)、2,2'-联吡啶(Bpy,99%)、苯甲酰氯(分析纯)、(+)-L-抗坏血酸钠(99%)、五水硫酸铜(98%)、2-溴丙酸甲酯(MBrP,99%)均于百灵威科技有限公

司购买;D-甘露糖(D-Mannose,分析纯)、盐酸阿霉素(DOX·HCl,99%)分别购于国药集团化学试剂有限公司与北京华奉联博科技有限公司。

1.2 主要仪器

AVANCE 400M 型核磁共振仪,德国 Bruker 公司;Nexus 470 红外光谱仪,美国 Nicolet 公司;Nano ZS 动态光散射仪(DLS),英国 Malvern 公司;JEM-2100 透射电子显微镜(TEM),日本电子株式会社;激光共聚焦显微镜(CLSM),日本尼康株式会社。

1.3 PSA-b-PGMA-Mannose 聚合物胶束的制备合成

1.3.1 炔丙基- α -D-吡喃甘露糖的合成 按照文献[18]制备炔丙基- α -D-吡喃甘露糖。

1.3.2 单体甲基丙烯酸丙酮缩甘油酯(SA)的合成 按照文献[19]制备单体甲基丙烯酸丙酮缩甘油酯(SA)。

1.3.3 PSA-b-PGMA-Mannose 的合成 将 3.4 g 单体 SA 溶解于 1.7 mL 的环己酮中,通入氩气 15 min,以保证瓶内的无氧环境,依次加入 130.4 mg CuBr、189.6 μ L PMDETA,密封烧瓶,在氩气的保护下,向瓶中注入 101.2 μ L 的引发剂 MBrP,在 90 $^{\circ}$ C 油浴下反应 13 h。反应结束后,向瓶中加入 THF 10 mL 以终止反应,并置于空气中搅拌 1 h。将瓶内混合液通过中性氧化铝柱,收集所得浅色液体,旋转蒸发除去溶剂,将瓶内粘稠液体逐滴加于正己烷中沉淀,反复三次,将所得沉淀干燥即可得聚甲基丙烯酸缩丙酮甘油酯(PSA)。

将 2 g 的 PSA 溶解于 1.4 mL 的二甲亚砜中,通入氩气 15 min,以保证瓶内的无氧环境,依次加入 56.4 mg CuBr、2.8 g GMA 和 83 μ L PMDETA,密封烧瓶,在氩气的保护下,40 $^{\circ}$ C 油浴下反应 3 h。反应结束后,向瓶中加入 THF 10 mL 以终止反应,并置于空气中搅拌 1 h。将瓶内混合液通过中性氧化铝柱,收集所得液体,旋转蒸发除去溶剂,将瓶内粘稠液体逐滴加于正己烷中沉淀,反复三次,将所得沉淀干燥即可得产物 PSA-b-PGMA。保持 PSA 当量不变,调节反应中单体 GMA 的当量,即 $n(\text{PSA}):n(\text{GMA})=1:50,1:90,1:120,1:150$ 合成具有不同嵌段比的聚合物。

将 200 mg PSA-b-PGMA 溶解于 4.5 mL N,N'-二甲基甲酰胺中,依次加入 46.8 mg 叠氮化钠和 38 mg 氯化铵,在 50 $^{\circ}$ C 油浴下反应 12 h。反应结束,

将瓶内溶液过滤,旋转蒸发除去溶剂,将瓶内粘稠液体加入水中沉淀,反复三次,将所得沉淀干燥即得产物 PSA-b-PGMA-N3。

取烧瓶 1,称取 50 mg PSA-b-PGMA-N3 加入其中,再加入 2 mL DMF 进行溶解,通入 15 min 氩气。另取烧瓶 2,依次将 44 mg 炔丙基- α -D-吡喃甘露糖、50 mg 五水硫酸铜晶体以及 86 mg (+)-L-抗坏血酸钠加入其中,用 1.5 mL 蒸馏水进行溶解,向瓶内通入 15 min 氩气。充分溶解后,将烧瓶 2 内水溶液缓慢滴加到烧瓶 1 中,搅拌,继续通入氩气 10 min,密封烧瓶,在油浴 70 $^{\circ}$ C 反应 2 d。过滤反应液,在透析袋(MW10000)中透析 3 d,每 4 h 换一次水,冷冻干燥透析袋内溶液,得到目标产物 PSA-b-PGMA-Mannose。

1.4 载药聚合物胶束的制备

将 50 mg 盐酸阿霉素和 3 当量的三乙胺溶解在 10 mL 蒸馏水中,室温下搅拌 4 h,期间严格避光,用二氯甲烷进行萃取(20mL $\times$ 3),旋转蒸发除去溶剂,真空干燥 12 h 后即得脱盐后的阿霉素(DOX)。取 4 mg 脱盐 DOX 溶解在 4 mL DMSO 中,静置后经 0.45 μ m 滤膜过滤待用。另将 PSA-b-PGMA-Mannose 溶解在 5 mL DMSO 中,并用 0.45 μ m 滤膜过滤待用。

分别取适量上述待用溶液混合搅拌,并逐滴加入磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.4)8 mL,搅拌 1 h。随后将混合液移至透析袋(MW10000)中,在同样的 PBS 体系中透析 3 d,每隔 4 h 换一次水,最后将透析袋内溶液冷冻干燥 3 d,即得到负载阿霉素的聚合物胶束(DOX@PSA-b-PGMA-Mannose)。

1.5 载药胶束的细胞内吞

将对数期生长的 MDA-MB-231 和 HEK293 两种细胞分别在培养皿中接种,贴壁后,加入 40 μ g/mL 的 DOX@PSA-b-PGMA-Mannose 溶液再培养,一天后,移去培养液,并用 PBS 溶液清洗 2 次。然后,进行细胞的固定染色,具体操作:用 1 mL 4.0%甲醛溶液固定细胞 20 min。再用染料 DAPI 染色细胞核 20 min^[20]。在激光共聚焦显微镜下观察 DOX@PSA-b-PGMA-Mannose 载药胶束在两种细胞内部的分布情况,设置 405/561 为激发波长,发射波长则设置为 417-477/570-1 000。

对 MDA-MB-231 的甘露糖封堵试验,即提前将 5 mg/mL 浓度的甘露糖水溶液与细胞共同培养 4

h,然后再加入载药胶束共同培养,接下来的操作与上述一样。

1.6 细胞毒性评价

采用 MTT 法考察 DOX@PSA-*b*-PGMA-Mannose 载药胶束对的 MDA-MB-231 和 HEK293 两种细胞的细胞毒性^[21]。将两种细胞以 10000/孔接种在 96 孔板中,培养一段时间后,将载药胶束 DOX@PSA-*b*-PGMA-Mannose 或原药 DOX 的血清培养基加入孔板中共培养,两天后,移去孔中培养液,并以 PBS 清洗 2 次,然后将 100 μ L MTT 溶液 (1 mg/mL) 更换为 100 μ L DMSO,摇床震荡 15 min。在酶标仪上测定波长 490 nm 处的吸光度值(OD)。

2 结果与分析

2.1 两亲性嵌段聚合物 PSA-*b*-PGMA-Mannose 的合成

两亲性嵌段聚合物 PSA-*b*-PGMA-Mannose 的

合成示意图,如图 1 所示。以 MBrP 引发 SA 聚合,得到聚合物 PSA;再以聚合物 PSA 引发不同反应当量的 GMA 聚合,得到不同嵌段比例的聚合物 PSA-*b*-PGMA,通过核磁氢谱计算得到的聚合物分别为 PSA₃₀-*b*-PGMA₂₃, PSA₃₀-*b*-PGMA₄₅, PSA₃₀-*b*-PGMA₉₀, PSA₃₀-*b*-PGMA₁₁₅,其中 PSA₃₀-*b*-PGMA₄₅ 核磁氢谱见图 2(a)。合成的 PSA-*b*-PGMA 中存在的环氧基团易和叠氮化钠进行开环反应,从而在聚合物上引入叠氮基团,得到 PSA-*b*-PGMA-N₃。利用“click”反应,在叠氮基修饰的两嵌段聚合物上成功引入甘露糖分子,即得到 PSA-*b*-PGMA-Mannose,核磁结果如图 2(b),其中,在 8.17 ppm 处出现了三氮唑氢的特征峰,标志着“click”反应的成功。

2.2 嵌段聚合物的红外光谱分析

依次分别将聚合物 PSA₃₀-*b*-PGMA₂₃、PSA₃₀-*b*-PGMA₂₃-N₃ 以及 PSA₃₀-*b*-PGMA₂₃-Mannose 干燥粉末 1 mg 和无水溴化钾 100 mg 混合,充分研磨后

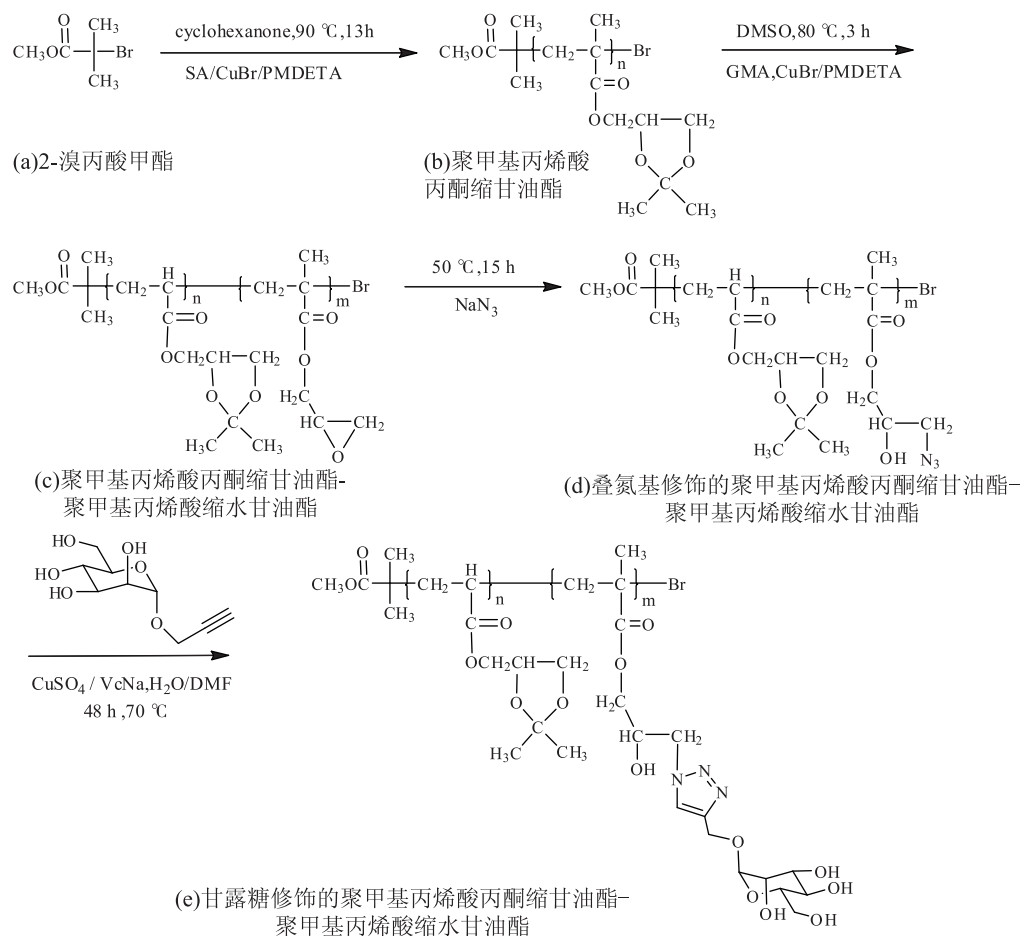


图 1 两亲性嵌段聚合物 PSA-*b*-PGMA-Mannose 的合成示意图

Fig. 1 Synthetic route of the PSA-*b*-PGMA-Mannose

压片,在 $4\,000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 进行扫描^[22],结果如图 3 所示。可以看到在 $1\,720\text{ cm}^{-1}$ 处 $\text{PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{23}$ 光谱有较强的 $\text{C}=\text{O}$ 峰;当引入叠氮基团后,图 3 中 B 曲线中,在 $2\,106\text{ cm}^{-1}$ 处出现了叠氮基团特征峰;而当 $\text{PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{23}\text{-N}_3$ 与炔丙基- α -D-吡喃甘露糖反应后,叠氮基团特征峰的消失,验证了“click”反应的发生以及甘露糖的成功修饰(图 3 中 C 曲线)。

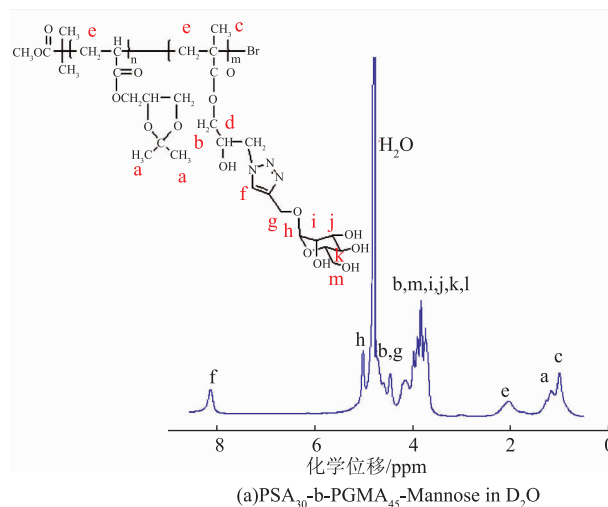
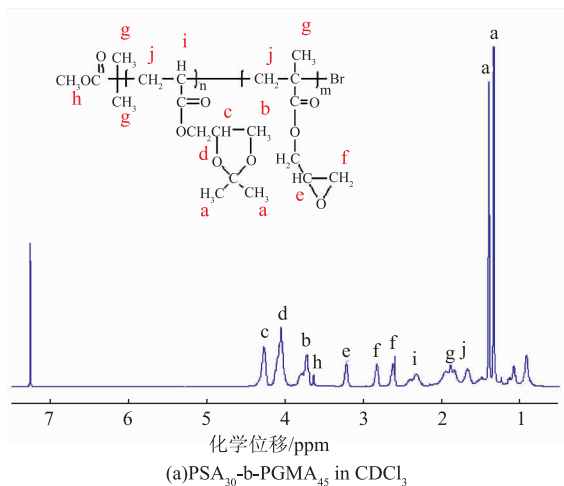


图 2 嵌段聚合物的核磁共振 ^1H NMR 谱图

Fig. 2 ^1H NMR spectra of the polymers

2.3 不同嵌段聚合物胶束的 TEM 与 DLS 表征

通过 DLS 测定不同嵌段比例胶束的流体力学直径,并且观察它们粒径之间的变化趋势,结果见图 4。实验结果发现,4 种不同嵌段比的胶束平均粒径分别为 255, 105, 78, 24 nm。可以发现随着亲水嵌段的比例增大,胶束的粒径减小。选取空白胶束 $\text{PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{115}\text{-Mannose}$,当其负载 DOX 后,平均流体力学直径由 24 nm 增大为 97 nm(图 5)。

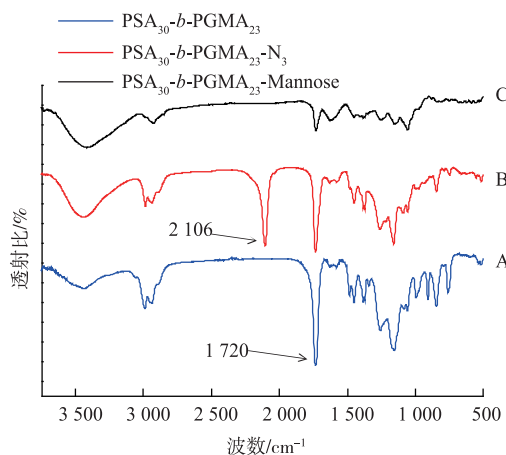


图 3 嵌段聚合物的红外光谱

Fig. 3 FT-IR spectra of the polymers

通过 TEM 观察不同嵌段比例胶束的形貌,结果见图 6,实验结果表明胶束呈球形,粒径分散均匀,分散性较好,而且和 DLS 测定的结果相似,随着亲水嵌段比例的增大,电镜图中的胶束粒径越来越小。根据文献[11],通常聚合物胶束粒径在 50~100 nm 之间时,其在体内具有显著的 EPR 效应,有利于在肿瘤部位的富集。故接下来的体外药物释放和细胞水平实验,选取平均粒径为 78 nm 的 $\text{PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{90}\text{-Mannose}$ 作为药物载体进行评价。

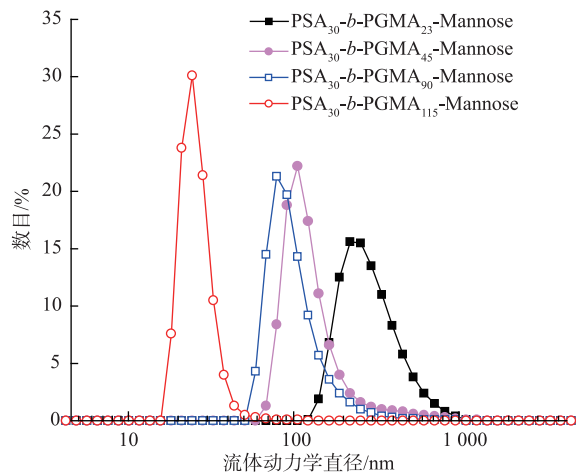


图 4 空白胶束在水溶液中的流体力学直径分布

Fig. 4 Diameter and distribution of the blank micelles

2.4 体外药物释放研究

通过分光光度计法可测得,载药胶束 $\text{DOX@PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{90}\text{-Mannose}$ 的载药量为 11%,包封率为 22%。根据文献报道,肿瘤组织微环境的 pH 值比正常组织低,当载药胶束在血液(pH 7.4)循环时释放药物量较低,而在肿瘤处快速释放大药

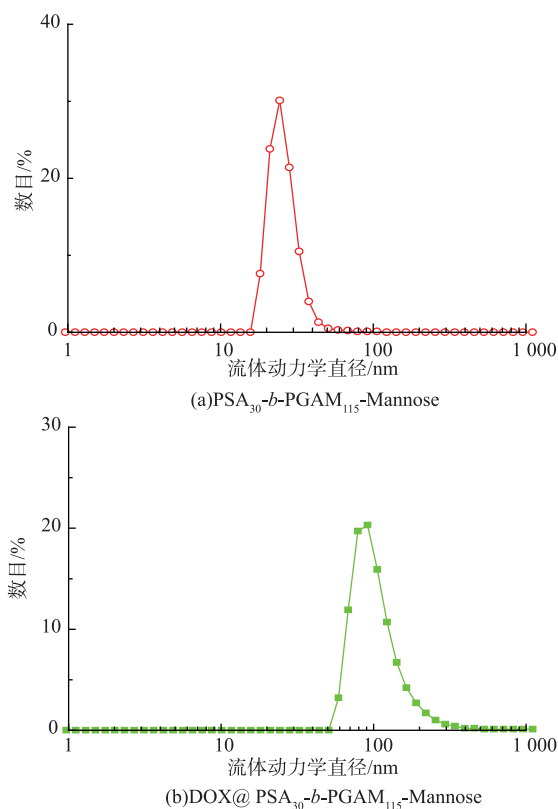


图5 空白胶束 $\text{PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGAM}_{115}\text{-Mannose}$ 载药前后在水溶液中的流体力学直径分布

Fig. 5 Diameter and distribution of the micelles

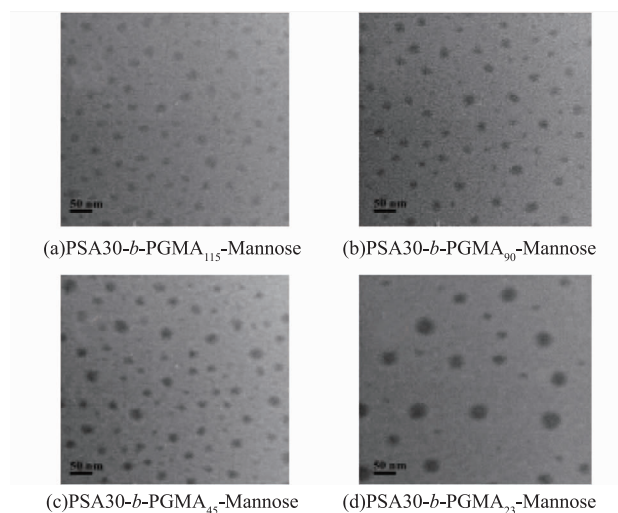


图6 空白胶束的透射电镜照片

Fig. 6 TEM images of the blank micelles

物,可以使药物选择性地肿瘤组织发挥药效,并减轻对正常组织的毒副作用。因此,本文选择了 pH 7.4 和 pH 3.5 两种释放介质以探究我们设计的聚合物胶束是否具有 pH 敏感性和缓释性能。取载药胶

束 $\text{DOX@PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{90}\text{-Mannose}$ 1 mL,转移至透析管中,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 25 mL 的 pH 7.4 和 pH 3.5 缓冲液中分别测定 DOX 的药物体外释放,实验全程避光。将烧杯置于恒温震荡培养箱中,设置恒定温度为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$,振荡频率为 100 r/min。每隔一段时间吸取 1 mL 释放介质,平行实验 3 次,计算累积药物释放率,同时补加相同体积的介质。实验结果如图 7 所示,在 pH 3.5 的介质中,药物释放速度以及累积释放率均高于在 pH 7.4 介质中的释放。在 pH 3.5 的介质中,48 h 累积释放率可达到 74.6%。实验结果说明,作者设计的聚合物胶束显示出了较好的 pH 敏感性和药物缓释性能,能够很好地响应肿瘤组织的微环境而释放药物,从而减少对正常组织的毒副作用并增强治疗效果。

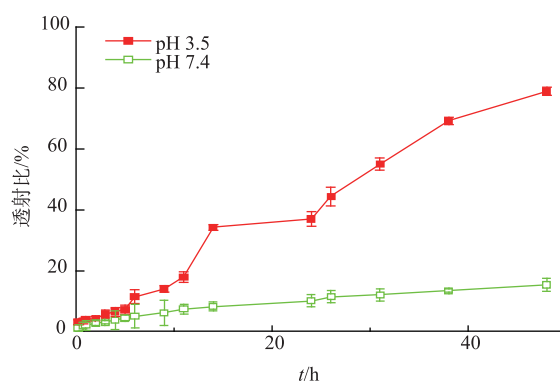


图7 负载阿霉素的载药胶束分别在 pH 7.4 和 pH 3.5 条件下的药物释放情况

Fig. 7 DOX release profile from $\text{DOX@PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{90}\text{-Mannose}$ at pH 7.4 and pH 3.5, respectively

2.5 载药聚合物胶束细胞内吞及摄取研究

选取载药胶束 $\text{DOX@PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{90}\text{-Mannose}$,通过激光共聚焦显微镜考察甘露糖受体介导的细胞内吞作用,其结果见图 8。分别以 MDA-MB-231 癌细胞和 HEK293 正常细胞为细胞模型,其中仅癌细胞表面具有高表达的甘露糖受体,将载药胶束 $\text{DOX@PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{90}\text{-Mannose}$ 与细胞分别进行培养;另外,将 MDA-MB-231 癌细胞提前进行甘露糖封堵,再与载药胶束 $\text{DOX@PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{90}\text{-Mannose}$ 进行培养。在图 8(a)中可以看到,在癌细胞 MDA-MB-231 内出现较高强度的由 DOX 发出的红色荧光,该现象可以说明载药胶束 $\text{DOX@PSA}_{30}\text{-}b\text{-PGMA}_{90}\text{-Mannose}$ 已被癌细胞大量摄取。而由图 8(b)可知,经过甘露糖封堵的 MDA-

MDA-MB-231 癌细胞,由于 MDA-MB-231 细胞表面的甘露糖受体提前与甘露糖结合,所以再跟载药胶束进行培养的时候,癌细胞表面几乎没有未被甘露糖封堵的甘露糖受体,所以摄取载药胶束的能力极差,和未封堵的癌细胞有非常明显的差异。由图 8(c)对于甘露糖受体低表达的 HEK293 细胞,细胞内红色荧光强度同样很低,说明几乎没有载药胶束被摄入 HEK293 细胞内。上述实验结果说明,我们所制备的甘露糖修饰的胶束具有良好的靶向性,可以被癌细胞表面的甘露糖受体特异性识别,通过内吞进入癌细胞内,然后药物释放发挥药效,抑制癌细胞的生长;同时减少了载药胶束被正常细胞识别内吞,从而降低抗癌药物的毒副作用。

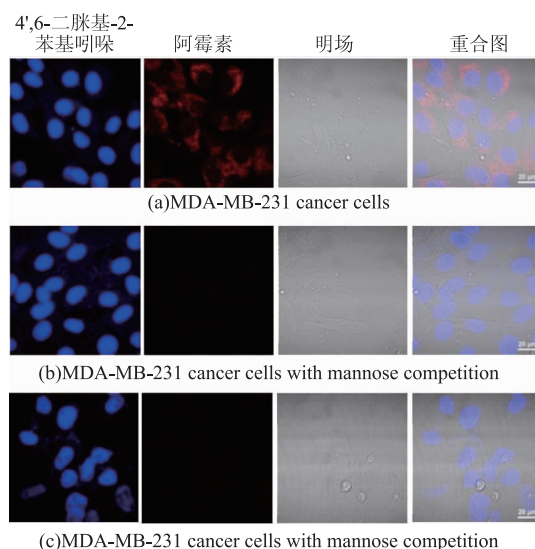


图 8 MDA-MB-231 细胞,甘露糖封堵的 MDA-MB-231 细胞和 HEK-293 细胞分别对 DOX@PSA₃₀-b-PGMA₉₀-Mannose 的摄取情况

Fig. 8 Cellular uptake of DOX@PSA₃₀-b-PGMA₉₀-Mannose

2.6 空白胶束和载药胶束的细胞毒性评价

选取空白胶束 PSA₃₀-b-PGMA₉₀-Mannose,实验采用 MTT 法考察其对两种细胞的毒性。配制 5 种浓度的空白胶束:0,25,50,100,200,500 $\mu\text{g/mL}$,分别与两种细胞培养两天,统计细胞存活率,结果如图 9 所示。实验结果表明,当空白胶束浓度增加到 500 $\mu\text{g/mL}$ 时,两种细胞存活率依然高达 80%~90%,证明该空白胶束具有较好的生物相容性。

同样采用 MTT 法评价载药胶束 DOX@PSA₃₀-b-PGMA₉₀-Mannose 对两种细胞的细胞毒性情况,

并以等量的 DOX 作为对比,结果如图 10。由图 10(a)所示,对于癌细胞,载药胶束 DOX@PSA₃₀-b-PGMA₉₀-Mannose 具有比 DOX 更强的细胞毒性;而由图 10(b)可知,对于正常细胞,载药胶束具有比 DOX 较低的细胞毒性。这是因为甘露糖修饰的载药胶束能够特异性识别癌细胞表面高表达的甘露糖受体,并被内吞进入癌细胞;而低表达甘露糖受体的 HEK293 细胞无法识别甘露糖修饰的载药胶束,所以内吞摄取载药胶束的能力很低。

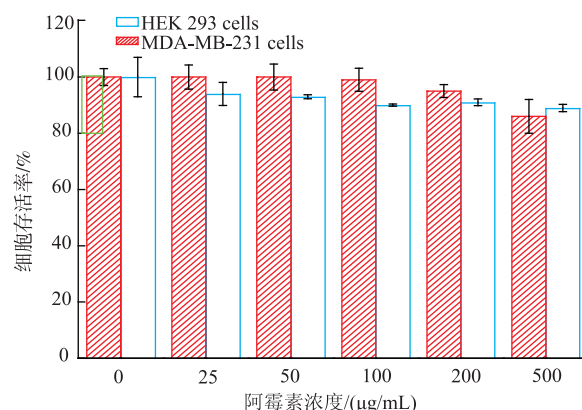


图 9 空白胶束对 MDA-MB-231 以及 HEK293 的细胞毒性
Fig. 9 Cytotoxicity of PSA₃₀-b-PGMA₉₀-Mannose against MDA-MB-231 and HEK-293 cells

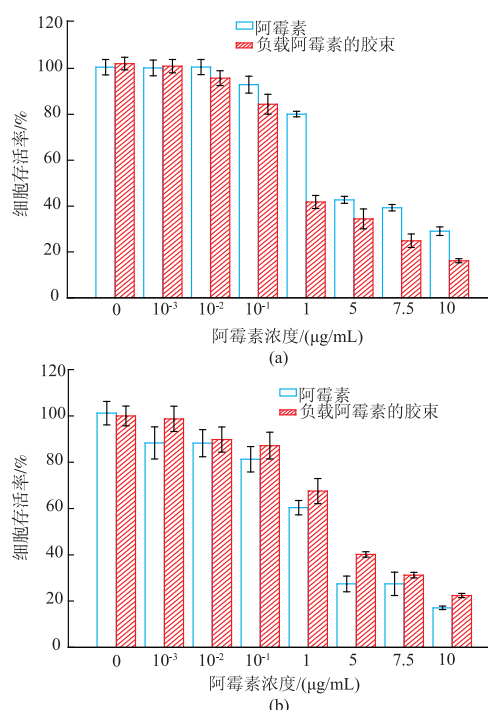


图 10 载药胶束对 MDA-MB-231 和 HEK-293 的细胞毒性
Fig. 10 Cytotoxicity of DOX@PSA₃₀-b-PGMA₉₀-Mannose against MDA-MB-231 and HEK-293 cells

3 结 语

本论文合成了不同亲疏水嵌段比例的聚合物 PSA-*b*-PGMA-Mannose,并利用这些嵌段聚合物制备胶束,研究胶束的形貌及粒径变化情况,发现随着亲水嵌段的比例增加,胶束的流体力学直径变小。选取胶束 PSA₃₀-*b*-PGMA₉₀-Mannose,以阿霉素 DOX 作为疏水药物,利用嵌段聚合物的疏水链段所形成的空腔包裹药物 DOX 制备了载药聚合物胶束

DOX@PSA₃₀-*b*-PGMA₉₀-Mannose。研究其体外药物释放情况,并考察其对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的抑制效果。结果显示,载药胶束能够被甘露糖受体特异性识别而内吞进入细胞内,并释放药物。本文制备的载药胶束对癌细胞,具有比原药 DOX 更高的细胞毒性,而毒副作用较低。因此,我们制备的聚合物胶束作为一种新型药物载体有望应用于靶向治疗癌症。

参考文献:

- [1] PEER D, KARP J M, HONG S, et al. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy [J]. **Nature Nanotechnology**, 2007, 2(12): 751-760.
- [2] DANHIER F, FERON O, PREAT V. To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery[J]. **Journal of Controlled Release**, 2010, 148(2): 135-146.
- [3] DOSHI N, MITRAGOTRI S. Designer biomaterials for nanomedicine [J]. **Advanced Functional Materials**, 2009, 19(24): 3843-3854.
- [4] LIU Z J, YAO P. Versatile injectable supramolecular hydrogels containing drug loaded micelles for delivery of various drugs[J]. **Polymer Chemistry**, 2014, 5(3): 1072-1081.
- [5] AL-JAMAL W T, KOSTARELOS K. Liposomes: from acclinically established drug delivery system to a nanoparticle platform for theranostic nanomedicine[J]. **Accounts of Chemical Research**, 2011, 44(10): 1094-1104.
- [6] GILLIES E R, FRECHET J M J. Dendrimers and dendritic polymers in drug delivery [J]. **Drug Discovery Today**, 2005, 10(1): 35-43.
- [7] ZHANG Q, LIU F, NGUYEN K T, et al. Multifunctional mesoporous silica nanoparticles for cancer-targeted and controlled drug delivery[J]. **Advanced Functional Materials**, 2012, 22(24): 5144-5156.
- [8] ZHANG Q, WANG X, LI P Z, et al. Biocompatible, uniform, and redispersible mesoporous silica nanoparticles for cancer-targeted drug delivery in vivo[J]. **Advanced Functional Materials**, 2014, 24(17): 2450-2461.
- [9] YING L, KINAM P. Polymeric micelles and alternative nanonized delivery vehicles for poorly soluble drugs [J]. **International Journal of Pharmaceutics**, 2013, 453(1): 198-214.
- [10] TANG J H, WANG X Q, WANG T, et al. In vivo pharmacokinetics, biodistribution and antitumor effect of amphiphilic poly (L-amino acids) micelles loaded with a novel all-trans retinoic acid derivative [J]. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2014, 51(15): 157-164.
- [11] CABRAL H, MATSUMOTO Y, MIZUNO K, et al. Accumulation of sub-100 nm polymeric micelles in poorly permeable tumors depends on size[J]. **Nature Nanotechnology**, 2011, 6(12): 815-823.
- [12] PRABAHARAN M, GRAILER J J, PILA S, et al. Folate-conjugated amphiphilic hyperbranched block copolymers based on Boltorn® H40, poly (l-lactide) and poly (ethylene glycol) for tumor-targeted drug delivery [J]. **Biomaterials**, 2009, 30(16): 3009-3019.
- [13] SUTTON D, NASONGKLA N, BLANCO E, et al. Functionalized micellar systems for cancer targeted drug delivery [J]. **Pharmaceutical Research**, 2007, 24: 1029-1046.
- [14] DANHIER F, LEBRETON A, PREAT V. RGD-based strategies to target alpha (v) beta (3) integrin in cancer therapy and diagnosis[J]. **Molecular Pharmaceutics**, 2012, 9(11): 2961-2973.
- [15] NOH T H, KOOK Y H, PARK C Y, et al. Block Copolymer micelles conjugated with anti-EGFR antibody for targeted delivery of anticancer drug[J]. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, 2008, 46(22): 7321-7331.
- [16] BREVET D, GARY-BOBO M, RAEHM L, et al. Mannose-targeted mesoporous silica nanoparticles for photodynamic therapy[J].

- Chemical Communication**, 2009, 1(12): 1475-1477.
- [17] GARY-BOBO M, MIR Y, ROUXEL C, et al. Mannose-functionalized mesoporous silica nanoparticles for efficient two-photon photodynamic therapy of solid tumors[J]. **Angewandte Chemie International Edition**, 2011, 50(48): 11425-11429.
- [18] ZHAO J S, LIU Y F, PARK H J, et al. Carbohydrate-coated fluorescent silica nanoparticles as probes for the galactose/3-sulfogalactose carbohydrate-carbohydrate interaction using model systems and cellular binding studies [J]. **Bioconjugate Chemistry**, 2012, 23(6): 1166-1173.
- [19] ZHEN Y, WAN S, LIU Y, et al. Atom transfer radical polymerization of solketal acrylate using cyclohexanone as the solvent[J]. **Macromolecular Chemistry and Physics**, 2005, 206: 607-612.
- [20] ZHANG Q, LUAN L, FENG S, et al. Using a bifunctional polymer for the functionalization of Fe₃O₄ nanoparticles [J]. **Reactive and Functional Polymers**, 2012, 72(3): 198-205.
- [21] KONG L J, AO Q, XI J, et al. Proliferation and differentiation of MC 3T3-E1 cells cultured on nanohydroxyapatite/chitosan composite scaffolds[J]. **Chinese Journal of Biotechnology**, 2007, 23(2): 262-267.
- [22] CHEN Yiyong, GU Xiaohong, TA Jian. Study on anti-tumor activities of polysaccharides from inonotus obliquus [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2011, 30(1): 65-69. (in Chinese)

会 议 消 息

会议名称: 中国化学会全国第三届资源化学学术研讨会

会议时间: 2019年8月20-22日

会议地点: 甘肃省张掖市

主办方: 中国化学会

承办方: 1、中国化学会有机化学学科委员会; 2、河西学院; 3、西北师范大学

会议主题: 资源化学与社会可持续性发展

大会主席: 林国强

预计规模: 150人

联系人: 宋海

电子邮箱: songh_cn@163.com

电 话: 13830623722

地 址: 甘肃张掖市北环路846号河西学院

会议内容: 资源宏观利用过程中的化学研究成果以及资源型化合物的化学研究成果。范围: 1、各类物质资源(矿石、化石和生物)利用过程中的化学问题研究进展; 2、资源型化合物的发现与开发研究进展; 3、资源型化合物的化学、物理和生物学性能研究进展及其应用。